

**DER EINFLUSS VON LYSOZYM
AUF DIE WUNDHEILUNG**

Tierexperimentelle Untersuchungen

Karin Habersack

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553812_0057

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Direktor: Professor Dr. Otto Braun-Falco

DER EINFLUSS VON LYSOZYM
AUF DIE WUNDHEILUNG

Tierexperimentelle Untersuchungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Karin Habersack
aus Pöcking

München 1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. Detlef Petzoldt
Mitberichterstatter: Professor Dr. Otto Braun-Falco
Dekan: Professor Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 6. 4. 1976



Meinem lieben Mann

Inhaltsverzeichnis

A: Literaturübersicht

1. Einleitung	1
2. Biochemische und morphologische Betrachtungen zur Wundheilung	3
3. Die Eigenschaften des Lysozyms	11

B: Eigene Untersuchungen

1. Zielsetzung	19
2. Material und Methode	20
a) Zusammensetzung der Versuchssalben	20
b) Durchführung der Versuche	21
b. 1) Planimetrie der Wunde	26
b. 2) Gewichtsbestimmung des Granulationsgewebes	27
3. Ergebnisse	29
4. Diskussion	35

C: Zusammenfassung	37
--------------------	----

D: Literaturverzeichnis	39
-------------------------	----

Einleitung

" Die Thatsache, daß kleinere Lücken, die die Oberhaut durchsetzen, sich von selbst ergänzen, ist allbekannt und gilt jedem Laien als selbstverständlich. Die feineren Vorgänge hierbei sind jedoch nicht so einfach, wie es danach den Anschein haben möchte, sondern so verwickelt, daß sie zu den widersprechendsten Deutungen Anlaß gegeben haben."

So charakterisiert BARDELEBEN zu Beginn dieses Jahrhunderts die Vorgänge der Wundheilung.

Das Säugetier verfügt über eine Reihe von Schutzmechanismen zur Erhaltung der Integrität, zu denen unter anderem Antikörperbildung, Blutgerinnung, Entzündung und Wundheilung gehören.

Aus dem unüberschaubar großen Schrifttum über die Wundheilung geht hervor, daß es heute noch offene Fragen gibt, die immer wieder zu Untersuchungen anregen. In den letzten Jahren wurden mit Hilfe der Histochemie, der Autoradiographie und Elektronenmikroskopie große Fortschritte in der Wundheilungsforschung erzielt. Dabei hat sich gezeigt, wie komplex die Mechanismen sind, die ineinandergreifen, und wie stark die Wundheilung von endogenen und exogenen Einflüssen abhängt.

Da es bis heute nicht gelungen ist, Mittel zu finden, die eine normale Wundheilung beschleunigen (DITTRICH), ist es das Ziel der Wundbehandlung, optimale Wundheilungsbedingungen zu schaffen und Faktoren auszuschalten, die Wundheilungsstörungen verursachen.

Der in den nachfolgend beschriebenen Versuchen getestete Wirkstoff Lysozym legt auf Grund seiner Eigenschaften als Enzym und basisches Protein die Vermutung nahe, auf die Wundheilung positiv einwirken zu können.

Biochemische und morphologische Betrachtungen zur Wundheilung

Die meisten Autoren sehen in der Wundheilung eine Spezialform der Entzündung mit Exsudation und Proliferation (BLOCK, MARCHAND).

ZOLLINGER beschreibt drei Phasen der Wundheilung. Die erste Phase umfaßt die Exsudation von Blut und Plasma auf Grund von Gefäßläsion und lokaler Kreislaufstörung sowie den autofermentativen Gewebszerfall. In der zweiten Phase wird das nekrotische Gewebe ersetzt. Im Vordergrund stehen Proliferation, Grundsubstanzbildung und beginnende Kontraktion der Wundränder. In der dritten Phase reifen die Zelltypen aus bis zur Entwicklung der Narbe.

DUNPHY und UDUBA teilen die Wundheilung ein in

1. eine produktive oder Substratphase und
2. eine Kollagenphase.

HEGEMANN nannte den letzten Abschnitt, wegen der ab dem 13. Tag nach Wundsetzung eintretenden geweblichen Differenzierung "Differenzierungsphase".

ROSS nahm eine Einteilung vor in: Entzündungsphase, Proliferationsphase und Organisations- und Umbildungsphase.

BARON betrachtet die Wundheilung unter dem Gesichtspunkt der sich in der Wundumgebung vollziehenden Gewebsverschiebungen und bezeichnet die Gesamtheit der ablaufenden Bewegungsvorgänge als Wundkinematik.

CARREL untersuchte als Erster die Defektverkleinerung bei der Wundheilung systematisch. Er hielt die beobachtete Wundschrumpfung für einen wesentlicheren Faktor bei der Heilung als die Epidermisation. Es gibt nach ZOLLINGER zwei, möglicherweise drei, Phasen bei der Wundkontraktion, die sich weitgehend überlappen. An der Frühkontraktion, die sich zwischen dem dritten und fünften Tag einstellt, ist insbesondere das Fibrin beteiligt. Es kommt zu einer Schrumpfung des Wundinhalts. Durch Heparineinwirkung kann sie verzögert oder aufgehoben werden (HEGEMANN). Wesentlich später setzt eine Schrumpfung durch Wasserverlust des Bindegewebes ein. Dabei nähern sich die Polypeptidketten einander und die Kollagenfasern liegen nicht gestreckt sondern gewellt vor. Im Narbenstadium kann eine weitere wesentliche Schrumpfung, bedingt durch Alterung des Bindegewebes mit Gefäßverlust, auftreten. CARREL beobachtete auch die Latenzperiode von fünf bis sieben Tagen, eine Zeitspanne träger Bewegungsvorgänge bis zum Beginn der Epithelisation, und eine unterschiedliche Wundgröße bei gleicher Schnittführung auf Grund der Verschieblichkeit der Haut. Nach Durchtrennung des subkutanen Bindegewebes ist das Wundareal infolge der Retraktion größer als erwartet. BARON gibt die von ihm als "negative Schrumpfung" bezeichnete Vergrößerung der Wunde als wechselnd an. Im Schnitt beträgt sie bei Meerschweinchen 40%. Die Rückschrumpfung auf die erwartete Wundgröße dauerte einen Tag. BARON führt mit Hilfe von Wundheilungskurven den Nachweis, daß bis zum Beginn der Epithelisierung die Wunde um 52% durch rein kinematische Vorgänge verkleinert wird, wobei sich dieser Anteil bis zur Vernarbung auf 85% erhöht, so daß zur Defektdeckung nur 15% echt epitheliales Wachstum benötigt wird.

Die am fünften bis sechsten Tag einsetzende Epithelisation läuft mit sehr schnellen kinematischen Vorgängen in der Wundumgebung ab.

Die Epidermis, die ständigen Mikroverletzungen ausgesetzt ist, verfügt über besondere Schutzmechanismen. KÜHNAU bezeichnete die Haut im Sinne ihrer Regenerationsaufgabe als eine sekretorische Drüse, deren Aufgabe es ist, zum Schutz gegen Verletzungen Keratin zu produzieren. Er fand, daß die bei künstlich gesetzten Mikrowunden von 10 bis 15 μ Durchmesser schnell beginnende amöboide Wanderung der Epithelien über die Wundfläche hinweg einen komplizierten chemischen Prozess darstellt. Die Wanderung kommt dadurch zustande, daß Plasminogen durch einen Aktivator, den die verletzten Epidermiszellen freisetzen, in Plasmin umgewandelt wird. So wird das Gerinnsel auf der Wunde verflüssigt und die Gleitbewegung möglich. Auch werden Peptide gebildet, die gemeinsam mit den sauren Mucopolysacchariden aus dem Bindegewebe die Chemotaxis der Epidermiszellen veranlassen. Die Epithelzellen bilden Tonofibrillen, haften dadurch aneinander und bedecken schließlich die Wundfläche. Die Tonofibrillen bilden eine Vorstufe des Keratins. Die Mitoserate der wandernden Epithelzellen ist erhöht. Diese Erhöhung ist bedingt durch den Ausfall lokaler gewebspezifischer Mitosehemmstoffe für die Steigerung der Mitoserate in der Epidermis (KÜHNAU).

Die Epithelmigration kann pro Stunde die Länge von 2 bis 10 Epidermiszellen betragen; sie läuft parallel zur Teilung der Epidermiszellen. Die Teilungsaktivität der Zellen nimmt vom Wundrand zur Peripherie ab (LINDNER).

Die Wunde unterscheidet sich vom unverletzten Gewebe durch einen veränderten intermediären Stoffwechsel, besonders der Kohlenhydrate. Das aktivierte angrenzende Gewebe entkoppelt die oxydative Phosphorylierung durch basische Polypeptide. In histochemischen Untersuchungen wurden in den Makrophagen des Wundgebietes fast nur TPN (Triphosphopyridinnucleotid) - abhängige Oxydationsenzyme nachgewiesen. Das TPN-System liefert im Organismus vorwiegend Energie für Biosynthesen, während das DPN-System die Energie für funktionelle Leistungen der Organe bereitstellt (KÜHNAU).

Als unmittelbare Folge nach Wundetrtritt kommt es zu einer Gewebsazidose in der Wundumgebung. LINDNER beschreibt den kontinuierlich oder diskontinuierlich ablaufenden Übergang der primären Azidose (bedingt durch lokalen Sauerstoffmangel mit Erhöhung des CO_2 -Druckes im Wundgebiet) in die sekundäre Azidose als Folge weiterer Erhöhung der CO_2 -Spannung bei abnehmendem Sauerstoffdruck und zunehmendem Sauerstoffbedarf. Es kommt zur anaeroben Glykolyse mit Anhäufung fixer Säuren (Milchsäure, Zitronensäure, Brenztraubensäure). Die pH-Wert-Regelung, das Säure-Basen-Gleichgewicht und das Gleichgewicht im normalen Elektrolyt- und Wasserhaushalt werden gestört. PH-Wert-Untersuchungen von GIRGOLAFF ergaben innerhalb der ersten 24 Stunden ein Absinken auf pH 6,32 und dann ein langsames Ansteigen innerhalb der folgenden 14 Tage auf pH 7,05 (normal 7,14). Grundsätzlich kann das azidotische Milieu der Katabolen, das alkalische, der anabolen Phase der Wundheilung zugeordnet werden.

Die lokale Milieuänderung führt zur Mastzellendegranulation (DITTRICH). Histamin wird durch Decarboxylierung aus der Aminosäure Histidin gebildet. Es steigert die Kapillar- und Zellwanddurchlässigkeit und trägt zur Produktion des Wundsekretes bei. Die Histaminphase läßt nach 20 bis 40 Minuten nach, das Histamin wird desaminiert. In diesem Stadium der "Frühentzündung" (KÜHNAU) werden ödemfördernde Zwischensubstanzen freigesetzt. Leukotaxin und Exudin erhöhen die Durchlässigkeit der Kapillarmwand; Bradykinin und Kallidin steigern die Kapillardurchblutung. Serotonin wird gebildet sowie Nekrosin, das Gewebstrümmer und Fibrozyten auflöst. Ungefähr zwei bis vier Stunden nach Wundetrtritt beginnt in den unmittelbaren Randgebieten der Wunde die Autolyse. Sie wird durch das Platzen der Lysosomen eingeleitet, wodurch hochaktive Enzyme, wie saure Hydrolasen, Phosphatasen, Nucleasen, freigesetzt werden, die das geschädigte Gewebe abbauen und gegenüber dem gesunden Gewebe demarkieren. Bereits kurz nach Wundetrtritt kommt es zu kolloidchemischen Veränderungen, Desaggregation, Teilchenzerkleinerung und Depolymerisation.

LINDNER und SCHALLOCK bezeichneten die von ihnen histologisch und histochemisch untersuchte Veränderung der Bindegewebsgrundsubstanz als "Grundsubstanzentmischung". Durch Mitbeteiligung der interfibrillären Kittsubstanz an den Entmischungsvorgängen kommt es zu mechanischen Veränderungen der Kollagenfasern (der Quellbarkeit, Reißfestigkeit, Elastizität), bis zur Denaturierung des Fasereiweißes. Die so anfallenden Degenerationsprodukte können durch unspezifische Proteasen abgebaut werden. Diese werden durch extrazelluläre Fermentanreicherungen, hauptsächlich Serumfermente, zur Verfügung gestellt.

In histologischen Untersuchungen konnte RAEKALLIO in den aktivierten reticulohistiocytären Zellen Fermente nachweisen, die über einen Prozeß unspezifischer Aktivierung mesenchymaler Zellen die lokale Gewebsreinigung fördern.

MARCHAND weist auf die enge Verknüpfung von Wundheilung und Bindegewebsstoffwechsel hin. Auf die wichtigsten Bindegewebsbausteine: Zelle, Grundsubstanz und Faser, soll hier nicht im einzelnen eingegangen werden. Nach VON GAZA ist die Wundheilung in erster Linie ein mesenchymales und kein epitheliales Geschehen. 16 bis 32 Stunden nach Wundeintritt können bereits mit Hilfe der Autoradiographie Zellproliferationen nachgewiesen werden. Je nach chemischer Zusammensetzung des intrazellulär aufgenommenen Materiales kommt es zu Differenzierungen der primär aktivierten phagocytierenden Mesenchymzellen. Aus Makrophagen, die hauptsächlich Polysaccharide phagocytieren, entstehen Zellen der mastocytoiden Reihe, aus solchen mit vorwiegend Protein-Phagocytose überwiegend Zellen der plasmocytoiden Reihe. Die wichtigsten Zellen für den weiteren Wundheilungsverlauf sind die Fibroblasten, jene Zellen, die für die Grundsubstanzbildung entscheidend sind.

Die Makrophagen- und Fibroblastenabstammung ist eines der noch nicht völlig geklärten Kapitel der Wundheilung. Der größte Teil der Makrophagen stammt von hämatogenen Monocyten, bzw. von lymphomonozytären, mononucleären Rundzellen ab. Auch lymphoide Elemente können multipotente Differenzierungsfähigkeiten in die einzelnen Zellformen des Wundgranulationsgewebes besitzen (LINDNER, HUBER). Die Fibroblasten werden in der Vielseitigkeit ihrer chemischen Leistungsfähigkeit von keiner anderen Zellart übertroffen.

Nach KÜHNAU manifestieren sich diese Leistungen in drei Richtungen:

1. die der Synthese und Sekretion komplizierter, für die Wundheilung essentieller Moleküle;
2. die der Fixierung und Konzentration von Produkten des allgemeinen Stoffwechsels, die für die Steuerung des Wundheilungsvorganges bedeutsam sind;
3. die der Veränderung der Funktion von außen angebotener Substanzen durch deren chemischen Ab- und Umbau.

Die Grundsubstanzbildung geht der Kollagensynthese voraus. Beide Vorgänge können sich in derselben Bindegewebszelle abspielen. DITTRICH hält es für möglich, daß das Leitungsmuster der Grundsubstanzpolysaccharide der zu bildenden Kollagenphase matrizenartig die Struktur vorgibt und die Faserausbreitung reguliert und ordnet.

In Form von ^{35}S steht ein für die Bindegewebsuntersuchungen außerordentlich geeignetes Isotop zur Verfügung, da es als Sulfat in die sulfatierten Mucopolysaccharide der Grundsubstanz eingebaut wird. Sein Einbau spiegelt die Neubildung von Bindegewebsgrundsubstanz wieder. Das radioaktive Sulfat kann qualitativ mit der Autoradiographie erfaßt werden. Es sind sogar - mit Hilfe von zweischichtig belegten, doppelt-markierten Autoradiogrammen - Aussagen über verschiedene Teilvorgänge zu einem bestimmten Zeitpunkt möglich. Am zehnten bis zwölften Tag nach Wundeintritt wurde das Maximum der ^{35}S Inkorporationsrate und damit der Grundsubstanzsynthese festgestellt (BESTE; GRASEDYCK; SEITTER).

Der Kollagenaufbau im Bindegewebe stellt eine spezialisierte Form der Proteinsynthese dar. Drei nach ihren Umsatzraten verschiedene Kollagenfraktionen können unterschieden werden. Der Fibroblast synthetisiert zuerst eine lösliche Kollagenvorstufe: neutralsalz-lösliches Kollagen. Dieses haftet als Fibroglia an der Außenfläche der Fibroblastenmembran. Über einen komplizierten Aggregationsprozeß wachsen die noch kurzen Fadenmoleküle zu Faserbündeln (Protofibrillen) zusammen. Diese stellen die Elementarteilchen des unlöslichen Kollagens dar. Auf einem Nebenweg entsteht im Fibroblasten das säurelösliche Kollagen als eine Art Nebenprodukt (KÜHNNAU).

Nach dem zwölften bis vierzehnten Tag bilden sich die Kollagenstrukturen von der Polypeptidschraube zu Dreierschraubenbündeln und gehen schließlich durch weitere Reifung in die Quartärstruktur der Kollagenfibrillen über. Nach dem vierzehnten Tag schrumpfen die bindegewebigen Materialien leicht durch Wasserverlust und die Durchblutung wird geringer.

Die Fibroblasten nehmen an Zahl ab und die Kollagenfibrillen zu. Diese Differenzierungsphase wird immer stabiler bis zur endgültigen Vernarbung der Wunde.

Die Eigenschaften des Lysozyms

Die erste Beobachtung über einen Stoff, der Bakterien auflöst, stammt von LASCHTSCHENKO (1909). Er berichtete: "Über die keimtötende und entwicklungshemmende Wirkung von Hühnereiweiß" und stellte fest, daß verdünntes Hühnereiweiß die Fähigkeit besitzt, *Bacillus subtilis* aufzulösen. Die Wirkung schrieb er einem Enzym zu.

SUZUKI beobachtete die Lyse von Mikrokokkenkulturen durch Leukozytenextrakte und BLOOMFIELD die Zersetzung von Sarcinen durch Speichel.

Im Jahre 1922 entdeckte FLEMING jenen Stoff, den er als Lysozym bezeichnete, im Nasenschleim und bemerkte seine bakteriolytische Wirkung gegen grampositive Bakterien und gegen den von ihm isolierten *Mikrococcus lysodeikticus* insbesondere. Bis heute beruht eine der empfindlichsten Nachweismethoden für Lysozym auf seiner lytischen Wirkung gegen *Mikrococcus lysodeikticus* (Lysis Indikator).

Die Lysozymstruktur kann bei verschiedenen Tierarten wie auch im gleichen Makroorganismus unterschiedlich sein. ALDERTON und FEVOLD gelang es 1946 Lysozym aus Hühnereiweiß zu kristallisieren.

Beim Hühnereiweißlysozym (N-Acetylmuramidglykanohydrolase) handelt es sich um ein Protein mit 129 Aminosäureresten. Die Primärstruktur wurde von JOLLES und CANFIELD aufgeklärt und die schwierige Anordnung von Gruppen im Molekül und ihre Interaktion durch Röntgenanalyse aufgedeckt (BLAKE et al.).

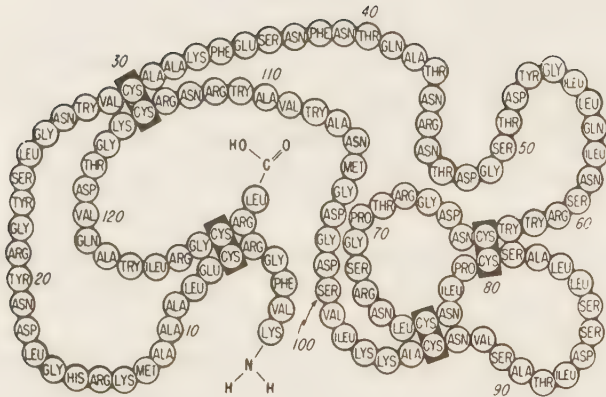


ABB. 1 : Aminosäuresequenz beim Hühnereiweißlysozym
nach CANFIELD und LIU (aus BLAKE et al.)

Vier S - S - Brücken von Cystein-Resten bewirken die Faltung der Polypeptidkette. Das sehr niedrige Molekulargewicht beträgt 14600. Der isoelektrische Punkt liegt bei pH 10,9. Die biologische Bedeutung des Lysozyms wird neben seiner enzymatischen Wirkung auch seinem polykationischen Charakter zugeschrieben.

Nach JOLLES müssen für die Zugehörigkeit zur Lysozymfamilie folgende Kriterien erfüllt sein:

Es muß sich um ein basisches Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 15000 handeln, welches in saurem Medium thermostabil (pH 4,5; 100° C; 1-2 min), in alkalischem labil ist. Es lysiert Suspensionen oder Zellwände von Bakterien leicht und setzt dabei Bruchstücke frei, die mit spezifischen Reagenzien für Aminosucker reagieren.

MEYER et al. beschrieben die Freisetzung von reduzierenden Gruppen, von N-acetylhexosamin und acetylhexosamin als typische Reaktionsprodukte der Lysozymeinwirkung auf bakterielle Substrate.

Lysozym ist in der Natur weit verbreitet. Es kommt in den menschlichen Leukozyten vor, im Speichel, in der Tränenflüssigkeit, im Serum und Plasma des Blutes. Beim Neugeborenen ist der Serum-Lysozymspiegel sehr hoch (COFFIN et al.). Weiterhin wurde es gefunden im Magensaft, im Liquor cerebrospinalis, in Lunge, Milz, Niere, Nebenniere, Knochen, Plazenta, in der Muttermilch, während es in der Kuhmilch, sowie in der Tränenflüssigkeit und den Leukozyten des Rindes nicht nachweisbar war. Auch in Pflanzen und in einigen Bakterien ist - wie FLEMING und ALLERSON herausfanden - Lysozym enthalten. Sie berichteten, daß eine für *Mikrococcus lysodeikticus* lösliche Substanz freigesetzt wurde, als Zellsuspensionen des gleichen Organismus von Tränenflüssigkeit-Lysozym aufgelöst wurden.

Von Nierengesunden wird Lysozym im Urin in ganz geringen Mengen ausgeschieden (bis zu 4 Lys_u/ml). Bei Nierenkranken wurde eine erhöhte Ausscheidung festgestellt.

Diese erhöhten Werte sind jedoch nicht obligatorisch, und es besteht keine Abhängigkeit des Lysozymgehaltes des Urins von dem des Speichels, Magensaftes und Serums (BURGHARTZ et al.).

HAWIGER fraktionierte ein Lysozym aus *Staphylococcus aureus* Stamm 524 durch Äthylalkoholauszüge verschiedener pH-Werte an einer Sephadex G - 200 Säule.

Schon HALLAUER nahm an, daß Mucopolysaccharide das natürliche Substrat des Enzyms sind. Der Angriffspunkt des Lysozyms erfolgt am Mucokomplex der Mikroorganismen. Die innerste Schicht der Bakterienzellwand besteht aus einem Polysaccharid-Peptidkomplex (Peptidoglykankomplex), der Murein genannt wird und direkt der zytoplasmatischen Membran der Bakterienzelle aufliegt. Lysozym greift die Polysaccharidkette an der glykosidischen Bindung zwischen N-Acetylmuraminsäure und N-Acetyl-glukosamin-Rest an.

Der Mureinanteil bei den grampositiven Bakterien beträgt 10 bis 50%. Bei den gramnegativen macht er etwa 10% der Zellwand aus (BUDDECKE). Die äußeren Schichten enthalten Lipoproteine, Lipopolysaccharide und Polysaccharide, wobei zwischen Lipiden und dem Mucokomplex eine glykosidische Bindung besteht.

Während Lyse ein echt enzymatisch-hydrolytischer Vorgang ist, beruht ein Teil der Lysozymwirkung auf Mikroorganismen auf dem polykationischen Charakter des Enzyms.

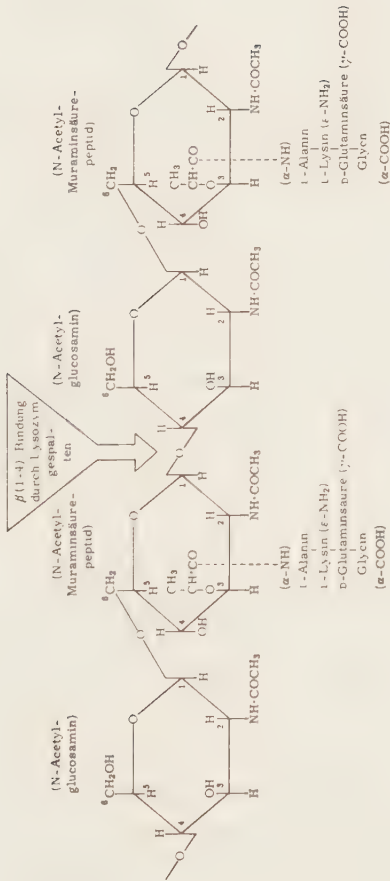


ABB. 2 Mukokomplex der Zellwand und Angriffspunkt des Lysozims
JAWETZ und Mitarbeiter

NEUMAN schreibt dem Lysozym u. a. Wirksamkeit gegen Viren, entzündungshemmende, hämostatische, eutrophische und wundheilungsfördernde Aktivitäten zu. RICHTERICH bezeichnete Lysozym als "körpereigenes Antibiotikum". In Versuchen, mit anderen Substanzen erhöhte chemotherapeutische Effekte zu erzielen, fand RITZERFELD bei Kombinationen von Lysozym mit Penicillin, Chloramphenicol und Nitrofurantoin auf einen gegen Penicillin - G resistenten Staphylococcus-Stamm bessere Hemmung als durch die Einzelsubstanz. Diese gesteigerte Wirksamkeit war bei E. coli jedoch nicht nachweisbar. PELLEGRINI et al. synthetisierten ein neues Antibiotikum-Salz: Lysozym-Ampicillinat, nachdem ein synergistischer Mechanismus der antibakteriellen Wirkung von Lysozym und Penicillin sichergestellt war. Die erhöhte antibakterielle Wirkung soll neben dem Ampicillin durch Lysozym über die Mechanismen von Hemmung und Lyse erzielt werden.

Lysozym wirkt entzündungshemmend durch die Bindung saurer Entzündungsmediatoren. Die Komplexbildung von Lysozym mit sauren Viruskomponenten im Infektionsgebiet bringt zusätzlich einen antiviralen Effekt.

Bei Staphylokokken zeigt Lysozym ein umgekehrtes Verhältnis zwischen Lyse und Pathogenität. Es lysiert hauptsächlich Staphylococcus citreus und Staphylococcus albus. Bei Staphylococcus aureus kommt es bei entsprechend hoher Lysozymkonzentration zur Blockade der oxydativen Prozesse bis zum Wachstumsstillstand (CANDELI et al.).

Bei grampositiven Bakterien - auch bei *Staphylococcus aureus* - wurde ein Verlust von Grampositivität festgestellt. Auch FERINA und MELDOLESI berichteten über einen Hemmeffekt auf die Zellatmung, die je nach Lysozymkonzentration völlig blockiert werden kann. Das Abtöten von Bakterien muß nicht mit Lyse einhergehen. *Bacillus subtilis* wird rasch von Lysozym abgetötet, jedoch nicht aufgelöst (EPSTEIN und CHAIN).

Lysozym kann - künstlich zugeführt - die Phagozytose von Mikroorganismen fördern. GROSSGEBAUER bezeichnete dies als einen unspezifisch-opsoninähnlichen Effekt.

Große Bedeutung wird dem Enzym im Antikörper-Komplement-System zugesagt. In einem System mit hohem Antikörpergehalt und geringem Komplementgehalt scheint die Enzymkonzentration den Reaktionsablauf und den Grad der Lösung zu bestimmen (PELLEGRINI et al.).

MUSCHEL et al. postulieren:

" Das Antikörper-Komplement-System ebnet den Weg für die Lysozymwirkung, die in Protoblastenbildung besteht".

GROSSGEBAUER und LANGEMAARK berichten von neuen Untersuchungen über die bakterielle Serumwirkung von Serumlysozym. Danach soll Lysozym lediglich die Sphäroblastenbildung aus toten Bakterienstäbchen fördern, aber keinen Einfluß auf die serumbedingte Bakterizidie besitzen.

Die entzündungshemmende Wirkung des Enzyms schreibt PELLEGRINI zwei Mechanismen zu: einem lokalen, beruhend auf dem Zusammenwirken von Lysozym mit sauren Entzündungsmediatoren endogener und exogener Art, und einem Mechanismus über das Hypophysen-NNR-System.

Aus vielen experimentellen und klinischen Berichten über die Entzündungshemmung sei ein Versuch von QUINTO und CASAGLIA herausgegriffen, der an Ratten durchgeführt wurde. Bei lokaler Injektion von Crotonöl als Entzündungsgagens in die weiblichen Genitalorgane zeigte sich bei Tieren, denen zusätzlich Lysozym verabreicht wurde, eine signifikant geringere Entzündung des Genitales als bei Tieren, die diesen Zusatz nicht erhielten. Als basisches Polypeptid kann Lysozym sowohl die saure Ladung von endogenen wie von bakteriellen Entzündungsmediatoren neutralisieren.

Lysozym wird therapeutisch angewendet. Es soll wirksam sein bei der Behandlung von verschiedenen Viruserkrankungen wie: Herpes simplex, Herpes zoster, Warzen, condylomata acuminata, Aphosis und Vaccinia (FERRARI et al.).

Eigene Untersuchungen

Zielsetzung:

In den von uns durchgeführten Versuchen sollte festgestellt werden, ob Lysozym die Wundheilung beeinflusst.

Die antibakteriellen, antiviralen und entzündungshemmenden Wirkungen des Lysozyms und die Tatsache, daß Lysozym bereits erfolgreich therapeutisch bei verschiedenen Viruserkrankungen angewendet wird, erklärt das Interesse daran, zu untersuchen, ob die Eigenschaften des Lysozyms sich auch bei der Wundheilung positiv auswirken.

Dies sollte durch vergleichende Betrachtungen der Wundflächenverkleinerung im Heilungsverlauf und der quantitativen Granulationsgewebsbildung experimentell in Versuchen an Ratten nachgewiesen werden.

Material und Methode

Zusammensetzung der Versuchssalben

Die Zusammensetzung der in diesen Versuchen verwendeten Salben geht aus der folgenden Tabelle hervor.

Bezeichnung	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
Zusammensetzung				
Tetracyclin · HCL	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%
Lysozym · HCL	0,2%	5,0%	-	1,0%
Cystein · HCL	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%

Salbengrundlage:

60% Lanogen, 40% Polyglycol 300 ad 100
pH 4,5 - 5,0

Tabelle 1

Durchführung der Versuche

Um die Versuchsergebnisse möglichst wenig durch verschiedene Reaktionslagen verfälschen zu lassen, wurden als Versuchstiere ausschließlich männliche Wistar-Ratten aus Inzuchtstämmen mit einem Gewicht von 150 bis 180 Gramm verwendet. Die Tiere erhielten Normalkost und Wasser ad libitum. Sie wurden einzeln in Käfigen gehalten.

An zwei Vorversuchen mit je 10 Tieren wurden die beiden Versuchsmethoden geklärt.

Es handelte sich um Blindversuche, da die Zusammensetzung der Testsalben erst nach Abschluß bekanntgegeben wurde.

Im ersten Versuch wurden Wunden für die planimetrische Ausmessung gesetzt. Es wurden vier Gruppen zu je zwölf Tieren eingeteilt, die mit P_1 , P_2 , P_3 und P_4 bezeichnet wurden. Die Tiere jeder Gruppe wurden stets mit der ihrer Gruppe zugeteilten Salbe gleicher Bezeichnung behandelt. Die Wundsetzung unter Äthernarkose geschah nach folgendem Verfahren:

Nach Rasieren der Haut im Bereich der Lendenwirbelsäule wurde auf der linken Seite ein Hautstück von 19 mm Durchmesser ausgeschnitten. Die Epidermis und das subkutane Bindegewebe wurden mit Zahnfleischschere und chirurgischer Pinzette bis auf den Panniculus carnosus excidiert.

Im Vorversuch erwies sich eine speziell angefertigte elektrische Hautstanze als unbrauchbar, da die Wundtiefe nicht genau bestimmt werden konnte.

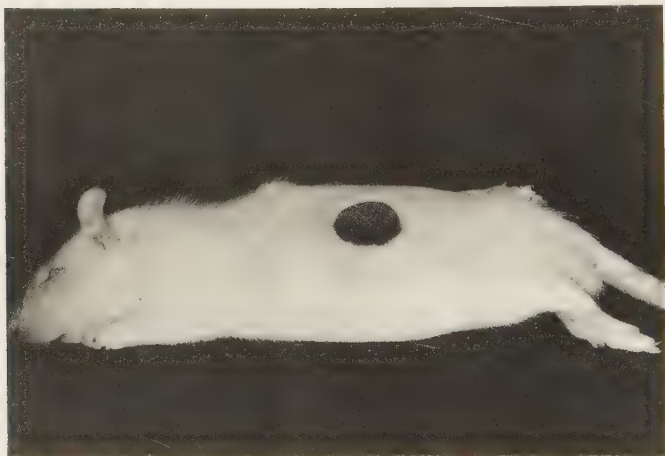


ABB. 3: Die Wunde für die Flächenmessung

Am Tag der Operation begann die Behandlung der Wunden mit den Versuchssalben. Die Salben wurden zweimal täglich aufgetragen. Die Aufzeichnung der Wundumrisse mit Tusche auf Transparentpapier nach der Methode von CARREL und DEHELLY erfolgte sofort nach Wundsetzung und später alle zwei Tage bis zum Wundschluß.

Im zweiten Versuch standen ebenfalls 48 Tiere zur Verfügung, die in vier Gruppen zu je zwölf Tieren eingeteilt wurden. Es wurden nach dem gleichen Verfahren runde Hautstücke seitlich der Lendenwirbelsäule excidiert.

Der Durchmesser der Wunden betrug 13 mm. Es sollte reines Granulationsgewebe zur quantitativen Messung gewonnen werden.

Um die Operationsbedingungen derart konstant zu halten, daß ein gleichmäßiges Wachstum des Granulationsgewebes zustande kommt, wurde in der zweiten Versuchsreihe ein Verfahren mit Kunststoffringen angewendet, das von RUDAS zur Testung von Stoffen empfohlen wird, die die Wundheilung beeinflussen.

Plastikringe mit einem Durchmesser von 19 mm wurden mit Hilfe von Pinzetten in die noch elastischen Wundränder gesetzt. So konnte sich die Haut einerseits nicht kontrahieren, und andererseits konnte das Epithel nicht mit der Wunde in Berührung kommen. Die Ränder der kleinen Zylinder waren oben und unten nach außen umgebogen. Die Ringe wurden sowohl durch die wegen der im Durchmesser kleineren Wunden entstandenen Spannung festgehalten, als auch durch den unteren Rand der Ringe, um den sich die Wundränder fest schlossen. Ein Wundverband wurde angelegt um Verschmutzung zu vermeiden.

Der erste Versuch dieser Reihe ergab kein auswertbares Ergebnis, da trotz erfolgreichen Vorversuches von zu vielen Tieren der Verband abgestreift und der Ring aus der Wunde gerissen wurde. Drei Tiere gingen - vermutlich an Sepsis - ein.

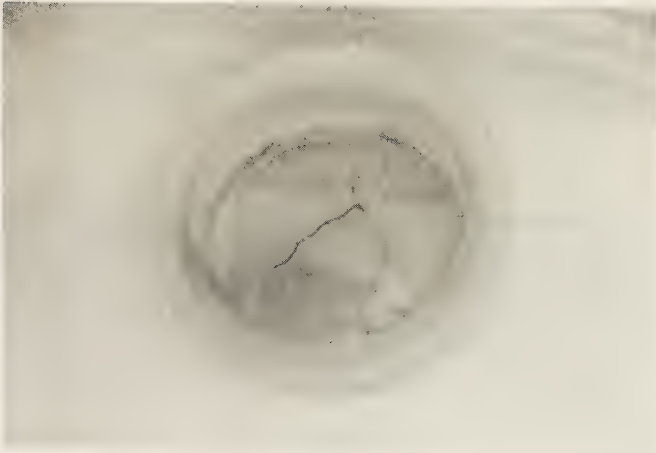


ABB. 4: Die Wunde unmittelbar nach Einsetzen des
Plastikringes

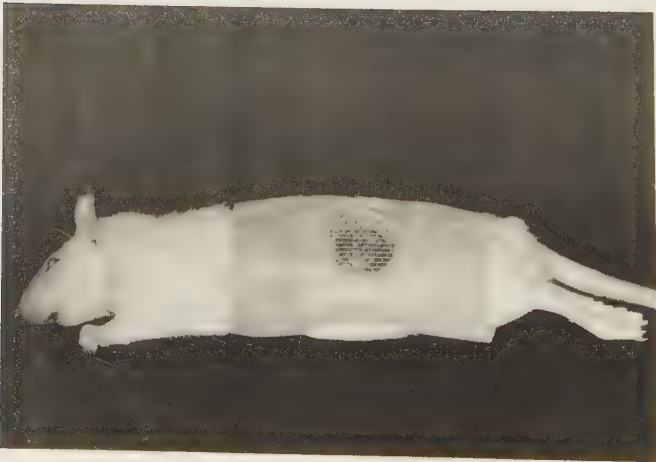


ABB. 5: Der Wundverband

Der zweite Versuch war auswertbar. Die Versuchsalben wurden zweimal täglich auf die Wunden aufgetragen. Am zehnten Tage nach der Wundsetzung wurden alle Tiere mittels Äther getötet. Das Granulationsgewebe, das sich nach dem Entfernen des Ringes deutlich darstellte, wurde von der Muskelfascie abpräpariert und sogleich auf der Mikrowaage gewogen.

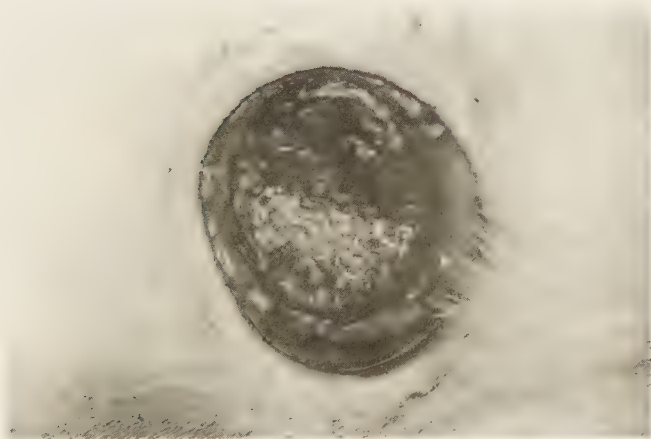


ABB. 6: Das Granulationsgewebe nach Entfernen des Plastikringes am zehnten Tage nach der Operation

Planimetrie der Wunde

Die auf Transparentpapier aufgezeichneten Wundumrisse wurden auf Millimeterpapier aufgelegt und so die Flächeninhalte der Wunde in mm^2 bestimmt.

Aus diesen Werten wurden die Mittelwerte für jede Gruppe und jede Messung ermittelt.

Gewichtsbestimmung des Granulationsgewebes

Der Versuch erforderte einen Test für die Feststellung des Unterschiedes zweier Erwartungswerte. Für die Auswertung wurde der Student - t - Test gewählt.

Um zu testen, ob die Erwartungswerte $E(X_k)$ und $E(X_j)$ gleich sind, entnimmt man einer Grundgesamtheit eine Stichprobe mit den Werten X_k , der anderen eine davon unabhängige Stichprobe X_j .

Die Hypothese: $E(X_k) = E(X_j)$ (wobei $k \neq j$; $k, j = 1; 2; 3; 4$) ist bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von $P\%$ abzulehnen, wenn

$$|t| > \gamma_{P\%}^{(n+m-2)}$$

$n + m$ gibt die Anzahl der Versuche an

$n + m - 2 \equiv$ Zahl der Freiheitsgrade der Zufallsgröße

Dabei ist

$$t = \frac{\overline{X}_k - \overline{X}_j}{\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m}} \sqrt{\frac{1}{n+m-2} \left[\sum_{v=1}^n (X_{k_v} - \overline{X}_k)^2 + \sum_{\mu=1}^m (X_{j_\mu} - \overline{X}_j)^2 \right]}}$$

$\overline{X}_k; \overline{X}_j =$ Mittelwerte

Es wurde die Hypothese $E(X_k) = E(X_j)$ gegen die beiden Alternativen $E(X_k) < E(X_j)$ oder $E(X_k) > E(X_j)$ geprüft. Da beide Alternativen untersucht werden, handelt es sich um einen zweiseitigen Test. Voraussetzung für die Anwendung des t-Tests ist, daß die Zufallsgrößen $X_k; X_j$ unabhängig und normalverteilt sind.

Man kann annehmen, daß die Zufallsgrößen X_k das Ergebnis des Zusammenwirkens einer Vielzahl von Variablen darstellen. Auf Grund der sich aus dem zentralen Grenzwertsatz (HEINHOLD, GAEDE) ergebenden Zusammenhänge kann mit großer Wahrscheinlichkeit eine Normalverteilung der Zufallsgrößen X_k angenommen werden. Die Unabhängigkeit der Zufallsgrößen X_k ist in ausreichendem Maße dadurch sichergestellt, daß die Werte $\{X_k\}$ aus Versuchen mit jeweils verschiedenen Tieren entnommen wurden.

Dem errechneten Wert der Testgröße t wurde der in der Tabelle der Signifikanzschranken der Student-Verteilung entnommene Wert $\gamma_{P\%}^{n+m-2}$ gegenübergestellt, wobei geprüft wurde, ob

$$|t| > \gamma_{P\ 95\%}^{n+m-2}$$

ist.

War dies der Fall, so war damit ein signifikanter Unterschied zwischen $E(X_k)$ und $E(X_j)$ bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von $P = 95\%$ festgestellt. Daraufhin wurde der Test auch mit $P = 99\%$ und $P = 99,9\%$ durchgeführt.

Für $|t| < \gamma_{P\ 95\%}^{n+m-2}$ ergibt sich kein signifikanter

Unterschied zwischen $E(X_k)$ und $E(X_j)$.

Der Versuchsreihe PK seien im Folgenden die Zufallsgrößen X_k zugeordnet. $P_1 \hat{=} X_1$; $P_2 \hat{=} X_2$; $P_3 \hat{=} X_3$; $P_4 \hat{=} X_4$.

Ergebnisse

Tabelle 2 zeigt den Heilungsverlauf bei den einzelnen Gruppen im Versuch der planimetrischen Ausmessung der Wunde.

Wenn bei diesem Versuch auch Fehlerbereiche berücksichtigt werden, die sich aus geschätzten Fehlern ergeben, wie subjektive Meß- und Übertragungsungenauigkeiten, sowie Verzerrungen der Wunden bei der Ausmessung durch unterschiedliche Hautspannungen, so erkennt man, daß die berechneten Fehlerbereiche sich in hohem Maße überlappen. Zwischen den einzelnen Meßbereichen kann in keiner Weise unterschieden werden.

Im Versuch der planimetrischen Ausmessung konnte kein signifikanter Unterschied in der Verkleinerung der Wundflächen und der Wundheilungsdauer zwischen den einzelnen Versuchsgruppen gefunden werden.

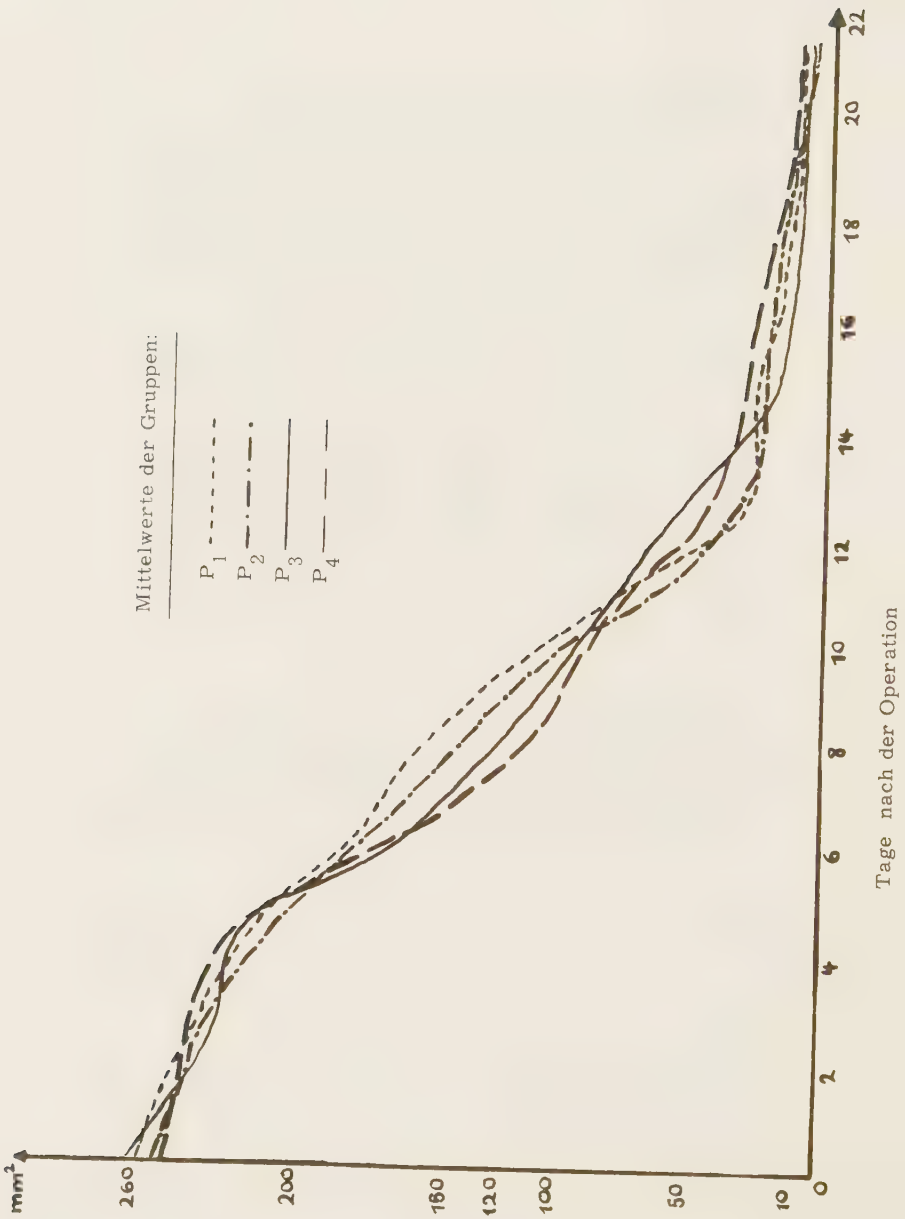


Tabelle 2: Wundheilungsverlauf beim Versuch der Flächenmessung

Mittelwerte der Wundflächen der Gruppen P₁ P₂ P₃ P₄

Folgende Werte und Ergebnisse ergaben sich bei der Gewichtsbestimmung des Granulationsgewebes:

$$\frac{X_1 - X_2}{n + m - 2}$$

$$t = 0,9170$$

$$n + m - 2 = 15$$

$$r_{P 95\%}^{15} = 2,1315 \text{ bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von } P = 95\%$$

$$|t| < 2,1315$$

d. f. die Hypothese $E(X_1) = E(X_2)$ ist nicht abzulehnen.

Es wurde kein signifikanter Unterschied bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von 95% festgestellt.

$$\frac{X_1 - X_3}{n + m - 2}$$

$$t = 5,0272$$

$$n + m - 2 = 15$$

$$r_{P 99,9\%}^{15} = 4,073$$

$$|t| > r_{P 99,9\%}^{15}$$

Es wurde ein signifikanter Unterschied bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von 99,9% ermittelt.

$$\frac{X_1 - X_4}{n + m - 2}$$

$$t = 0,5794$$

$$n + m - 2 = 16$$

$$r_{P 95\%}^{16} = 2,1199$$

$$|t| < r_{P 95\%}^{16}$$

d. f. kein signifikanter Unterschied bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von 95%.

$$\frac{X_2 - X_3}{}$$

$$t = 7,5442$$

$$r_{P 99,9\%}^{15} = 4,073$$

$$|t| > r_{P 99,9\%}^{15}$$

Ein signifikanter Unterschied wurde ermittelt bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von 99,9%.

$$\frac{X_2 - X_4}{}$$

$$t = 2,0077$$

$$r_{P 95\%}^{15} = 2,1199$$

$$|t| < r_{P 95\%}^{15}$$

Die Signifikanzschranke wird für 95% gerade nicht erreicht.

$$\frac{X_3 - X_4}{}$$

$$t = 7,9533$$

$$r_{P 99,9\%}^{16} = 4,015$$

$$|t| > r_{P 99,9\%}^{16}$$

Es ergibt sich ein signifikanter Unterschied bei einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von 99,9%.

Während die Gruppen P_1 , P_2 , P_4 untereinander keine signifikanten Unterschiede in der Granulationsgewebsbildung aufweisen, ergeben sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen $P_1 - P_3$, $P_2 - P_3$, $P_3 - P_4$.

Aus der Tabelle über die Zusammensetzung der Testsalben geht hervor, daß die Salben P_1 , P_2 , P_4 Lysozym in unterschiedlicher Dosierung enthielten. P_3 war frei von Lysozym.

Das bedeutet, daß Lysozym auf die Granulationsgewebsbildung einen positiven Effekt hat. Eine unterschiedlich gute Wirkung der einzelnen Lysozymkonzentrationen läßt sich jedoch aus den Meßergebnissen nicht ablesen.

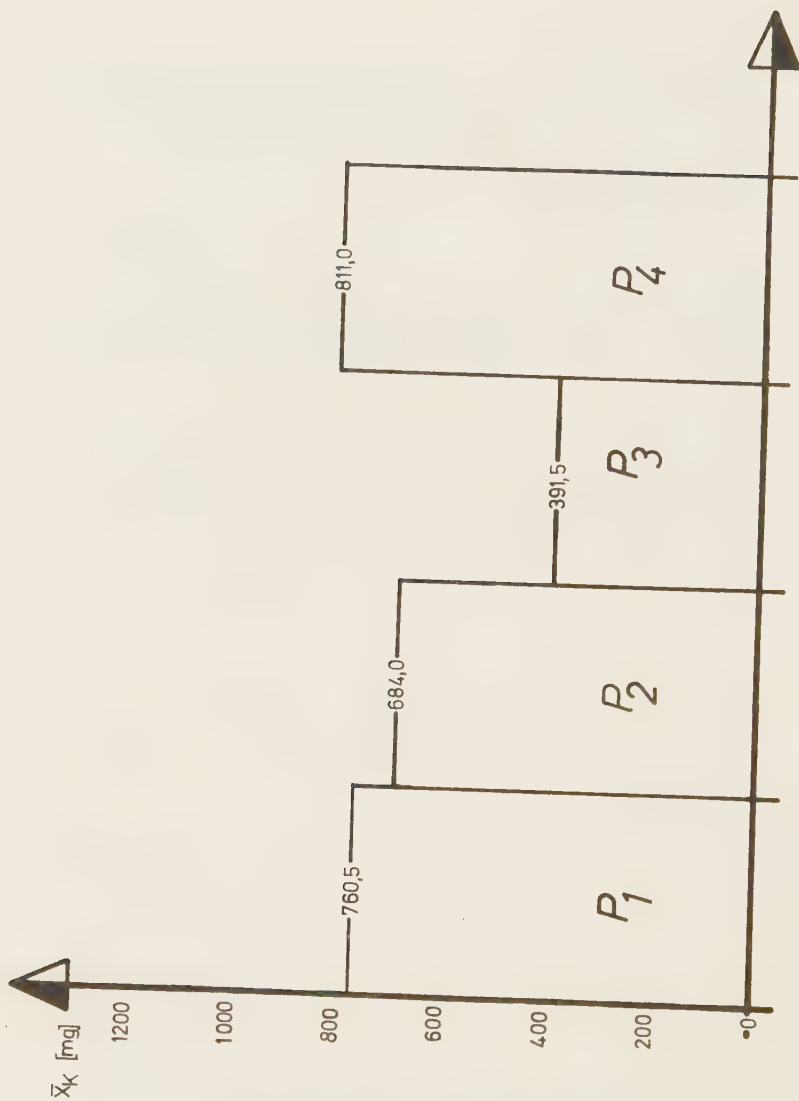


Tabelle 3: Mittelwerte der am 11. Tage nach Wundsetzung entnommenen Granulationsgewebe

Diskussion

Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche sollen einer ersten Orientierung über die Wirkung von Lysozym auf die Wundheilung dienen.

In beiden Versuchsreihen, der der planimetrischen Ausmessung der Wundflächenverkleinerung und der der Gewichtsbestimmung des Granulationsgewebes, wurden Ratten mit Salben behandelt, die 0,2%, 1% und 5% Lysozym enthielten; eine Salbe war lysozymfrei.

Im Versuch der planimetrischen Ausmessung der Wunden, bei dem neben der Proliferation die Kontraktion für den Wundschluß eine entscheidende Rolle spielt, ergaben sich keine Unterschiede in der Wundheilung zwischen den einzelnen Gruppen. Möglicherweise sind die Gründe in der Versuchsanordnung zu suchen.

Die Gewichtsbestimmung des Granulationsgewebes, das am 11. Tage nach der Operation entnommen wurde, zeigt, daß Lysozym granulationsfördernd wirkt.

Alle drei mit lysozymhaltiger Salbe behandelten Tiergruppen hatten gegenüber der mit lysozymfreier Salbe behandelten Gruppe eine signifikant erhöhte Granulationsgewebsbildung.

Diese Gewichtszunahme gibt einen Hinweis auf den positiven Einfluß des Lysozyms auf die Wundheilung.

Welche Wirkungen des Lysozyms - die entzündungshemmenden, eutrophischen, antibakteriellen oder antiviralen - in den einzelnen Phasen der Wundheilung eingreifen, konnte in den Versuchen nicht geklärt werden.

Es kann angenommen werden, daß besonders die antibakteriellen und antiviralen Eigenschaften des Lysozyms über die Verhinderung von Wundheilungsstörungen günstig auf die Wundheilung wirken.

Zwischen den Gruppen, die mit verschiedenen hoch dosierten Lysozymmengen behandelt wurden, ergab sich kein signifikanter Unterschied. Es ist somit keine Aussage über die geeignete Dosierung möglich.

Es wird noch weiterer Versuche bedürfen, bis die Wirkungsmechanismen des Lysozyms bezüglich der Wundheilung vollständig aufgeklärt sind und Lysozym therapeutisch bei Wunden angewendet werden kann.

Zusammenfassung

Zu Beginn der Arbeit wird über die Wundheilung unter Berücksichtigung des epithelialen und mesenchymalen Geschehens berichtet.

Der Aufbau des in den Versuchssalben enthaltenen Lysozyms, seine physikalischen Eigenschaften, sein Vorkommen und sein Enzym-Substrat werden beschrieben.

Während die lytische Aktivität des Lysozyms ein enzymatisch-hydrolytischer Vorgang ist, beruht ein Teil der Lysozymwirkungen auf seinem polykationischen Charakter. Lysozym gilt als körpereigenes Antibiotikum; es zeigt einen synergistischen Mechanismus der bakteriellen Hemmung von Lysozym und Penicillin und ihm kommt Bedeutung im Antikörper-Komplementsystem zu .

In eigenen Untersuchungen an Ratten sollte der Einfluß von Lysozym auf die Wundheilung beobachtet werden. Dazu wurden zwei Testmethoden an je vier Gruppen von Tieren in Blindversuchen ausgeführt.

Im ersten Versuch wurden den Ratten kreisrunde Hautstücke seitlich der Lendenwirbelsäule excidiert. Diese Wunden wurden zweimal täglich mit den vier Versuchssalben (lysozymfrei, verschiedene Lysozymkonzentrationen) versorgt. Die Wundumrisse wurden im Abstand von zwei Tagen nach der Methode von CARREL und DEHELLY auf Transparentpapier aufgezeichnet.

Bei der Auswertung der planimetrischen Ausmessung ergab sich kein Unterschied in der Wundheilung zwischen den Tieren der verschiedenen Gruppen.

Im zweiten Versuch wurden den Tieren in die Wunden Plexiglasringe nach einem von RUDAS empfohlenen Verfahren eingesetzt. Auf diese Weise wurde ein Einfluß der unerwünschten Wundkontraktion auf die Wundheilung vermieden und reines Granulationsgewebe gewonnen. Zweimal täglich wurden die Salben auf die Wunden aufgetragen. Am zehnten Tag nach der Operation wurden die Tiere getötet, das entstandene Granulationsgewebe abpräpariert und gewogen.

Es ergab sich eine signifikant erhöhte Granulationsgewebsbildung bei den Tieren, die mit lysozymhaltigen Salben behandelt wurden, gegenüber denen, die lysozymfreie Salben erhalten hatten.

Aus den Versuchen kann man einen positiven Einfluß von Lysozym auf die Granulationsgewebsbildung erkennen.

Literaturverzeichnis

1. ALDERTON, G.; FEVOLD, H. L.
Direct crystallisation of lysozyme from eggwhite
and some cristallin salts of lysozyme
J. biol. Chem. 164 1 (1946)
2. ALEXANDER, J. W.; BOSSERT, J. E.;
MC CLELLAN, M. A.; ALTEMEIER, W. A.
Stimulants of cellular proliferation in wounds
Arch. Surg. 103 167 - 174 (1971)
3. BARDELEBEN, H. V.
Die Heilung der Epidermis
Virchows Arch. path. Anat. 163 497 - 550 (1901)
4. BARON, H.
Über Wundkinematik
Med. Mschr. 10 434 (1947)
5. BARON, H.
Die Bedeutung des Bindegewebes für die Wundheilung
Dtsch. Z. Chir. 261 482 (1949)

6. BESTE, G.
Tierexperimentelle Untersuchungen der unbeeinflussten
und der beeinflussten Wundheilung
Dissertation Hamburg 1965
7. BLAKE, C.; KÖNIG, D. F.; MAIR, G. A.;
NORTH, A. C. T.; PHILLIPS, D. C.; SARMA, V. R.
Structure of hen eggwhite lysozyme
Nature (Lond.) 206 757 (1965)
8. BLOCK, W.
Aktuelle Fragen bei Störung der Wundheilung
Langenbecks Arch. Clin. Chir. 289 42 - 59 (1958)
9. BLOCK, W.
Wundheilungsprobleme
Springer Verlag Berlin 1959
10. BLOOMFIELD, A.
Bull. John Hopk. Hosp. 30 317 (1919)
11. BUDDECKE, E.
Grundriß der Biochemie
Verlag de Gruyter Berlin 1971
12. BURGHARTZ, N.; BOOSFELD, E.
Bericht über Lysozymuntersuchungen im Urin
Klin. Wschr. 32 182 (1954)

13. BURGHARTZ, N., BOOSFELD, E.
Untersuchungen zur Verbesserung der Lysozym-
bestimmungsmethode
Klin. Wschr. 32 181 (1954)
14. CANDELI, A.; MASTRANDREA, V.,
CHIOCCI, M. L.
Atti 3° Symposium Internaz. Lisozima
Milano 1964 vol I sez III 115
15. CARREL, A.; DEHELLY, S.
The treatment of infected wounds
Exp. Med. 34 339 (1921)
16. CARRELL, A.; DU NOÛY, P. L.
Cicatrization of wounds
J. exper. Med. 34 339 - 348 (1921)
17. CAULFIELD, J.; BURKE, J.
Inhibition of wound healing by chloramphenicol
Arch. path. 92 119 - 125 (1971)
18. COFFIN, G. S.; HOOK, W. A.; MUSCHEL, L. H
Antibacterial substances in placentas and serums of
mothers and newborn infants
Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) 104 239 (1960)

19. DITTRICH, H.
Wundheilungsstörungen
Der Chirurg 7 289 - 295 (1971)
20. DOBERAUER, W.
Zum Einfluß des Lebensalters auf die Heilung
künstlicher Hautdefekte
Klin. Med. 18 199 - 204 (1963)
21. DOCUMENTA GEIGY
Wissenschaftliche Tabellen
Herausgeber: J. R. Geigy A. G. Pharma Basel
22. DUNPHY, J. E.; UDUPA, K. N.
New Eng. J. Mec. 253 847 - 851 (1955)
23. EPSTEIN, L. A.; CHAIN, E.
Brit. J. exp. Path. 21 339 (1940)
24. FEINER, R. R.; MEYER, K.; STEINBERG
Bacterial lysis by lysozyme
J. Bact. 52 375 (1946)
25. FERINA, F.; MELDOLESI, M. F
Atti 2° Symposium Internaz. Lisozima
Milano 1961 vol I sez III 73

26. FERRARI, R., PODIO, G. CALLERIO, C.
Antiviral activity of Lysozyme
Nature (Lond.) 183 548 (1959)
27. FLEMING, A., ALLISON, V. D.
Observations on a bacteriolytic substance
"lysozyme" found in secretions and tissues
Brit. J. exp. Path. 3 252 (1922)
28. VON GAZA, W.
Wundphysiologie und Wundbehandlung
Bruns' Beitr. 142 669 (1928)
29. GRASEDYCK, K.
Tierexperim. 35 S-Sulfat-radiochemische und
autoradiographische Untersuchungen der Wund-
heilung und ihre Beeinflussung
Dissertation Hamburg 1965
30. GRILLO, H. C.; POTSAID, M. S.
Studies in wound healing
Ann. Surg. 154 741 - 749 (1961)
31. GROSSGEBAUER, K; LANGMAACK, H.
Lysozyme
Klin. Wschr. 21 1121 (1968)

32. HALLAUER, C.
Über das Lysozym
Zentr. Bakteriол. Parasitenk. Abt. I
(Orig.) 114 519 - 529 (1929)
33. HAWIGER, J.
Purification and properties of lysozyme produced
by staphylococcus aureus
J. Bact. 95 376 (1968)
34. HEGEMANN, G.
Standardmethode zur Beurteilung des Wundverlaufs
Arch. Klin. Chir. 264 168 (1950)
35. HEINHOLD, J.; GAEDE, K.-W.
Ingenieur Statistik
Verlag Oldenbourg Mü - Wien (1968)
36. JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A
Medizinische Mikrobiologie
Verl. Springer Heidelberg 1968
37. JOLLES, P.
Recent development in the study of lysozyme
Angew. Chem. 3 28 - 36 (1964)

38. KÜHNAU, J.

Biochemie der Wundheilung

Langenbecks Arch. klin. Chir. 301 23 (1962)

39. LASCHTSCHENKO, P.

Über die keimtötende und entwicklungshemmende
Wirkung von Hühnereiweiß

Z. Hyg. Infektionskrankheiten 64 419 - 427 (1909)

40. LEVENSON, S. M.; GREEVER, E. F.; GROWLEY, L. V.;
OATES, J. F.; BERARD, C. W.; ROSEN, H.

The healing of rat skin wounds

Ann. Surg. 161 293 - 308 (1965)

41. LINDNER, J.

Die Morphologie der Wundheilung

Langenbecks Arch. klin. Chir. 301 39 - 70 (1962)

42. LINDNER, J.; HUBER, P.

Biochemische und morphologische Grundlagen der
Wundheilung und ihrer Beeinflussung

Med. Welt 24 897 - 910 (1973)

43. MARCHAND

Der Prozess der Wundheilung

Dtsch. Chir. Stuttgart (1901)

44. MEYER, K.; PALMER, J. W.; THOMPSON, R.;
KHORAZC, D.
The purification and properties of lysozyme
J. Biol.Chem. 113 303 - 309 (1936)
45. MILLER, T. E.; WATSON, D. W.
Innate immunity
Med. Clin. North America 49 1489 (1965)
46. MUSCHEL, L. H.; CAREY, W. F.; BARON, L. S.
J. Immun. 82 38 (1959)
47. NEUMAN , M.
Le Lysozyme
Le Concours Medical 86 - 46 6438 (1934)
48. DU NOÛY, L.
Une mesure de l'activité physiologique
Compt rend. Soc. biol 109 1227 (1932)
49. PELLEGRINI, R.; VERTOVA, P.
Synergism between penicillins and lysozyme
Arzneim. Forsch. (Drug. Res.) 19 110 - 112
375 - 379 (1969)

50. QUINTO, P., CASAGLIA, G.

Atti. 3° Symposium Internaz. Lisozima Milano 1964
vol II sez VIII pag. 1

51. RAEKALLIO, J.

Enzymes histochemically demonstrable in the earliest
phase of wound healing

Natur London 188 234 - 235 (1960)

52. REICH, M.-L.

Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß
von Lokalanästhetika auf die Wundheilung

Dissertation Bonn 1965

53. RICHTERICH, P.

Enzympathologie

Verlag Springer Heidelberg 1958

54. RITZERFELD, W.

Enzymatische Beeinflussung der Antibiotikawirkung

Arzneimittel Forsch. (Drug. Res.) 18 674 - 676 (1968)

55. ROQUAIN, J.

Contribution à l'Etude du Lysozyme

Thesis Bordeaux (1958)

56. ROSS, R.; EVERETT, N. B. TYLER, R
Wound healing and collagen formation
The Journal of Cell Biology 44 645 - 654 (1970)
57. RUDAS, B.
Neue exp. Beiträge zur Wundheilung
Klin. Med. (Wien) 18 196 - 199 (1963)
58. RUDAS, B.
Zur quantitativen Bestimmung von Granulationsgewebe
in experimentell erzeugten Wunden
Arzneim. Forsch. 10 226 - 229 (1960)
59. RUDAS, B.
Zum Wirkungsmechanismus der Hemmung des
reparativen Granulationsgewebes durch Anti-
phlogistika und Luftabschluß
Arzneim. Forsch. 12 386 - 388 (1962)
60. SABO, J.; ENQUIST, J.; OBERLANDER, L.
Acceleration of open wound healing by cartilage
Arch. Surg. 90 414 - 417 (1965)
61. SALTON, M. R. J.
The properties of lysozyme and its action on
microorganisms
Bact. Rev. 21 82 (1957)

62. SANDBLOM, P. H.

Wundheilungsprobleme mit Reißfestigkeitsmethoden
untersucht

Langenbecks Arch. klin. Chir. 287 469 - 480 (1957)

63. SCHADE, U.

Zur quantitativen Bestimmung von Granulations-
gewebe in tierexp. erzeugten Wunden

Inaugural Dissertation Leipzig 1963

64. SCHALLOCK, G.; LINDNER, J.

Beitrag zur Frage der Entmischungszustände in
den Grundsubstanzen des Bindegewebes

Medizinische 1 12 - 20 (1957)

65. SEITTER, J.

Autoradiographische Untersuchungen über den
Mechanismus der reparativen Regeneration bei
der Wundheilung

Dissertation Freiburg 1963

66. SUZUKI, S.

Arch. Hyg. 74 345 (1911)

67. WARREN, G. H.; GRAY, J.

Effect of sublethal concentrations of penicillins on the
lysis of bacteria by lysozyme and trypsin

Proc. soc. Exp. Biol. (N.Y.) 120 504 (1965)

68. WHITE, W. L.; BRODY, G.; GLASER, A. A.;
MUST, J.; MARANGONIS, R. D.; BECKWITH, T. G.;
LEHMAN, J. A.

Tensiometric studies of unwounded and wounded skin

Ann. Surg. 173 19 - 25 (1971)

69. WUNDER, J.

Tierexperimentelle Untersuchungen zum Problem der
Wundheilung und Behandlung

Med. Dissertation Düsseldorf 1961

70. ZOLLINGER, H. U.

Die Wundheilung vom Standpunkt der pathologischen
Anatomie

Helv. Chir. Acta 29 181 - 207 (1962)

Am Schluß dieser Arbeit sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr. Detlef Petzoldt für die Überlassung dieses Themas und für die stets freundliche Beratung bei der Durchführung meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Außerdem möchte ich mich bei Fräulein Heß und den Mitarbeitern im Tierstall der Dermatologischen Klinik für die Mithilfe bei den Versuchen und bei Herrn Dipl. phys. , Dipl. wirtsch. Ing. Peter Schaefer für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung bedanken.

L e b e n s l a u f

Am 10. August 1949 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Peter Gack und seiner Ehefrau Helene Gack, geborene Eberhardt, in Königstein im Taunus geboren.

Von 1956 an besuchte ich die Volksschule in Neuenhain im Taunus und trat anschließend in das Private Mädchengymnasium der Ursulinen in Königstein und 1961 in das Theodolindengymnasium in München ein, wo ich 1969 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1970 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Universität in München.

Im Jahre 1971 heiratete ich den Zahnarzt Dr. Werner G. Habersack.

Anschließend an das Sommersemester 1975 schloß ich mein Studium mit dem zahnärztlichen Staatsexamen an der Universität München ab.

